

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimental. Salah satu metode yang efektif untuk memahami dan menguji hubungan sebab-akibat antara variabel independen dan variabel dependen. Peneliti dapat secara aktif mengontrol variabel independen yang ingin diuji untuk menentukan bagaimana perubahan pada variabel tersebut berdampak pada variabel dependen (Alfaridz & Amalia, 2023). Pada penelitian ini dilakukan analisis pada daun kembang bulan untuk mengetahui senyawa flavonoid yang terkandung didalamnya.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan januari sampai bulan mei 2024 yang bertempat di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang dan Laboratorium Farmasi Ma Chung.

3.3 Alat dan Bahan

1. Alat

Dalam penelitian ini, alat yang digunakan termasuk Timbangan analitik merek redwag, Kaca arloji, Gelas beker 50 mL merek duran, Gelas beker 250 mL merek pyrex, Gelas beker 1000 mL merek pyrex, Spatula, Corong gelas, Cawan porselin, Water bath merek memmed, Tabung reaksi, Inkubator, Batang pengaduk, Labu ukur 5 mL merek iwaki, Labu ukur 10 mL merek iwaki, Labu ukur 100 mL merek iwaki, Labu ukur 1000 mL merek iwaki, Pipet ukur 1 mL merek pyrex, Pipet ukur 10 mL merek pyrex, Pipet tetes merek onemed, Kuvet, Oven merek memmed, Spektrofotometri UV-Vis Jasco V 760.

2. Bahan

Sampel Daun Kembang bulan, Kuersetin (sigma), HCl (teknis), Asam klorida, Etanol 70%, FeCl₃, Kalium asetat (p.a), Serbuk magnesium, Metanol (teknis) , AlCl₃ 10%, Aquadest, Kertas saring, Alumunium foil.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel independen (variabel bebas)

Variabel independen pada penelitian ini adalah waktu pengeringan 6 jam dan 10 jam.

2. Variabel dependen (variabel terikat)

Variabel dependen pada penelitian ini adalah kadar flavonoid.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional variabel adalah batasan dan cara pengukuran variabel yang akan diteliti, hal ini dibuat untuk memudahkan dan menjaga konsistensi pengumpulan data, menghindarkan perbedaan interpretasi serta membatasi ruang lingkup variabel.

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
Kadar Flavonoid	Jumlah flavonoid total pada ekstrak daun kembang bulan	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio
Waktu Pengeringan	Waktu pengeringan daun kembang bulan yang berbeda yaitu 6 dan 10 jam oven dengan suhu 60°C	Stopwatch	Ordinal

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Pengambilan Sampel

Sampel daun kembang bulan yang segar dikumpulkan lalu dipisahkan dari batangnya kemudian disortasi basah.

3.6.2 Pengolahan Sampel

Untuk memudahkan pengeringan, daun kembang bulan yang telah dikumpulkan dicuci dan dipotong. Selanjutnya, daun kembang bulan dikeringkan menggunakan oven selama 6 jam dan 10 jam. Untuk membedakan benda-benda asing, lakukan sortasi kering. Setelah simplisia

kering, dikecilkan dengan blender menjadi ukuran serbuk kasar. Setelah itu ditimbang, beratnya dicatat.

3.6.3 Ekstraksi Sampel

Sebanyak 100 gram serbuk daun kembang bulang masing-masing dimasukkan ke dalam toples kaca. Masukkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter ke dalam toples kaca maserasi selama 2 x 24 jam dan sesekali diaduk. Untuk menghasilkan ekstrak kental, rotary evaporator dan waterbath digunakan untuk memekatkan hasil ekstrak cair dengan suhunya di bawah 60° (Syamsul et al., 2019).

3.6.4 Uji Kualitatif Flavonoid

Penelitian ini menggunakan pereaksi warna FeCl_3 . Dalam tabung reaksi, masing-masing 1 ml ekstrak etanol 70% daun kembang bulang ditambahkan 3 tetes FeCl_3 . Timbulnya warna hijau atau hijau biru menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Pereaksi warna selanjutnya serbuk magnesium (Mg) secukupnya dan 5 tetes HCl. Terbentuknya warna kuning orange hingga merah menunjukkan adanya flavonoid (Waruwu et al., 2023).

3.6.5 Uji Kuantitatif Flavonoid

a. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Timbang 10 mg kuersetin dan larutkan dengan pelarut etanol 70%. Sehingga diperoleh larutan kuersetin 100 ppm. Larutan induk dipipet sebanyak 0,6 ml; 0,8 ml; 1 ml; 1,2 ml; dan 1,4 ml masing-masing ke dalam labu ukur 10 mL. Masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin ditambahkan 1,5 mL etanol 70%, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M, dan air suling 2,8 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm. Setelah itu diinkubasi selama 38 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 200-800 nm (Suoth et al., 2022).

b. Pembuatan Larutan Sampel

Masukkan masing-masing sampel dengan konsentrasi 30.000 ppm ke dalam labu ukur 10 ml dan ditanda bataskan dengan etanol 70%, kemudian saring larutan dengan *syringe filter*. Ambil sebanyak 0,5 mL

sampel ke dalam labu 5 mL lalu tambahkan 1,5 mL etanol 70%; AlCl₃ 10% 0,1 mL; kalium asetat 1 M 0,1 mL, aquades 2,8 mL. Kemudian inkubasi selama 38 menit. Ukur absorbansi menggunakan panjang gelombang maksimum yang sudah diketahui.

3.7 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Data hasil analisis pada penelitian ini yaitu untuk menganalisis kadar flavonoid total pada daun kembang bulan berdasarkan perbedaan waktu pengeringan. Pengujian ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, dimana uji kualitatif pada sampel dilakukan dengan uji warna dengan reagen dan uji Kromatografi Lapis Tipis, sedangkan uji kuantitatif dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis. Data dari kedua uji ini disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah dalam menginterpretasi hasil. Data dari uji kualitatif flavonoid berupa hasil positif dan negatif yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna setelah ditetesi dengan reagen dan dari hasil pengamatan dan perhitungan nilai Rf bercak kuersetin dan ekstrak daun kembang bulan. Sedangkan data dari uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis berupa persamaan regresi $y = bx + a$. Persamaan tersebut dapat digunakan untuk menentukan kadar flavonoid dalam daun kembang bulan.

Tabel 3.2 Penyajian Data Uji Warna

Waktu Pengeringan	Uji pereaksi	Warna yang dihasilkan	Keterangan
6 jam	FeCl ₃		(+)/(-)
	Serbuk Mg dan HCl		(+)/(-)
10 jam	FeCl ₃		(+)/(-)
	Serbuk Mg dan HCl		(+)/(-)

Tabel 3.4 Penyajian Data Kadar Flavonoid

Waktu pengeringan	replikasi	absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Kadar (flavonoid mg QE/g)
6 jam	1			
	2			
	3			
10 jam	1			
	2			
	3			